

**Перспективы развития диагностики
инфекционных заболеваний в системе
клинической лабораторной диагностики
в России.**

И.С.Тартаковский

ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии

им. Н.Ф.Гамалеи Минздрава России

Профильная комиссия экспертов
Минздрава России по клинической
лабораторной диагностике.

главный внештатный специалист
Минздрава по лабораторной
диагностике Кочетов А.Г.

Рабочая группа по микробиологии в рамках профильной комиссии экспертов по клинической лабораторной диагностике Минздрава России создана в декабре 2014 года.

В состав группы вошли представители крупных научных центров в области микробиологии (Москва, Санкт-Петербург, Смоленск, Омск), ведущих ВУЗов страны (Ставрополь, Екатеринбург, Уфа, Владивосток), занимающихся подготовкой и переподготовкой кадров в области медицинской микробиологии.

Проблемы отечественной медицинской микробиологии:

- кадровые
- материально-технические
- нормативным документам (приказ №535 от 22 апреля 1985 г.)
- поставки оборудования и реагентов
(рациональный выбор оборудования и реагентов)
- информационные

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

КЛИНИЧЕСКАЯ
ЛАБОРАТОРНАЯ
ДИАГНОСТИКА

МИКРОБИОЛОГИЯ

до середины
60-х годов
XX века

микробиология → иммунология

с 60-х годов
XX века

микробиология → молекулярная
генетика,
молекулярная
биология

Основные задачи и проблемы медицинской микробиологии в XXI веке.

- Расширение круга патогенных для человека микроорганизмов
- Новые методы диагностики на базе геномных и постгеномных технологий
- Диагностика и профилактика внутрибольничных инфекций
- Глобализация проблемы антибиотикорезистентности
- Персистенция: хронические и атипичные формы инфекционного процесса
- Возвращающиеся и вновь проявляющиеся инфекции

Медицинская помощь по разделу «бактериология» является неотъемлемой частью оказания медицинской помощи по профилю «клиническая лабораторная диагностика», но обладает определенными отличиями.

Основным отличием является необходимость, помимо характеристики внутренней среды организма пациента, выделения возбудителя инфекционного заболевания (бактерии, вирусы, грибы, простейшие) и (или) выявления и идентификации генетических детерминант, определяющих патогенность возбудителя и устойчивость к антимикробным препаратам.

При острых инфекционных заболеваниях особое значение приобретают срочные и среднесрочные микробиологические исследования со сроком выполнения в течение суток.

Существенный объем микробиологических исследований составляет анализ микробиологической составляющей внешней среды с целью профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Для диагностики и профилактики внутрибольничных инфекций наибольшее значение приобретают методы:

- позволяющие максимально быстро и достоверно выделить возбудитель внутрибольничной инфекции и (или) выявить и идентифицировать генетические детерминанты, определяющих патогенность возбудителя и устойчивость к антимикробным препаратам.

- позволяющие выявить госпитальный штамм, циркулирующий в ЛПО.

Медицинская (клиническая) микробиология в России

врачи-бактериологи 5-6 тысяч

врачи- вирусологи

врачи -клинические микологи

врачи-паразитологи ?

ВРАЧИ – СПЕЦИАЛИСТЫ ПО КЛИНИЧЕСКОЙ
ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ - 30 ТЫСЯЧ

2005 год:
5733 лабораторий КДЛ;
1015 самостоятельных
бактериологических(микробиологических)
лабораторий (21%).

2015год:
6928 лабораторий КДЛ;
1520 бактериологических отделов в составе
КДЛ(22%);
480 самостоятельных бактериологических
(микробиологических) лабораторий (7%).

Приказ №64 о номенклатуре лабораторных
исследований.

Основные тенденции развития современной микробиологии

- Автоматизация
- Централизация
- Внедрение молекулярно-генетических методов исследований
- Внедрение экспресс -методов (point of care)
«у постели больного»

Автоматизация: Текущее положение

Для других типов клинических исследований полностью автоматические лаборатории появились 15-25 лет назад. Микробиологические лаборатории в этом отстают.



Гематология



Клиническая биохимия



Иммунология

Микробиологические лаборатории: Проблемы и возможности

В чем причина медленной автоматизации микробиологических лабораторий?



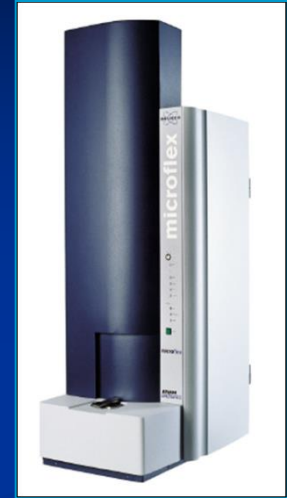
- **Сложные образцы**
 - Разнообразие типов и объемов образцов
 - Множество тестов для одного образца
- **Сложная обработка**
 - Сложные протоколы, включающие ручные операции
 - Зависимость от квалификации операторов
- **Низкая эффективность**
 - Отложенная обработка, тестирование группами
 - Культуры проверяются один раз в сутки
 - Много вспомогательных операций (например, проверка чашек без признаков роста, субкультивирование, повторные тесты ID/AST)

Автоматизация в микробиологии: Что сделано

Для многих отдельных процессов созданы автоматизированные системы, ускоряющие работу и повышающие точность

- Автоматизированные системы гемокультивирования
- Автоматизированные системы идентификации и определения чувствительности к антибиотикам
- Масс-спектрометрия MALDI-TOF/TOF для идентификации микроорганизмов
- Молекулярные системы для выявления и идентификации микроорганизмов

Несмотря на эти достижения, полная автоматизация микробиологических лабораторий развивается медленно.



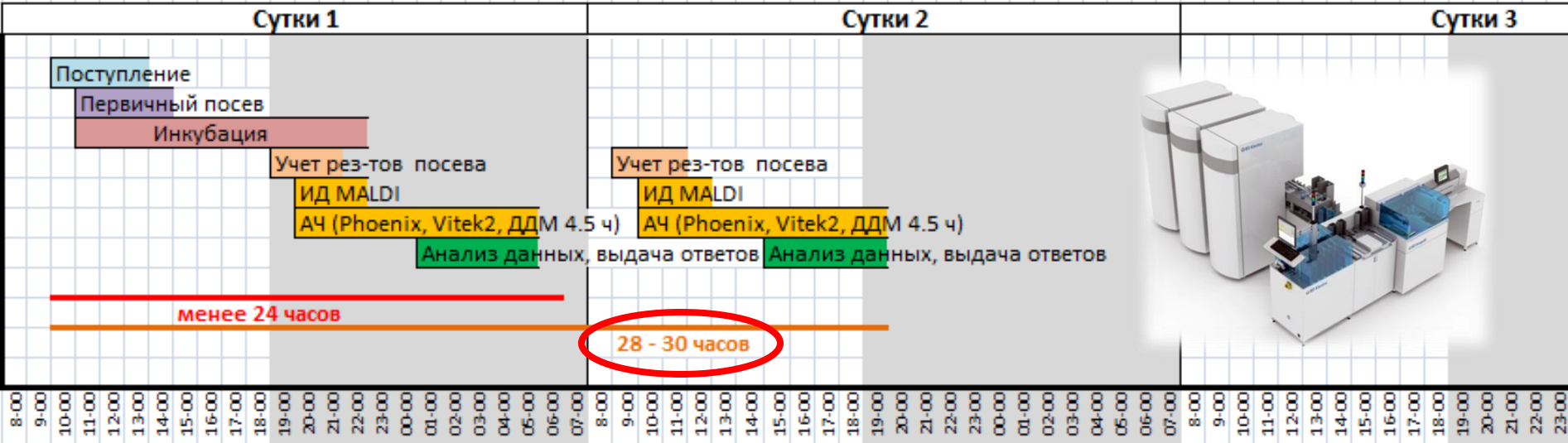
Полная автоматизация микробиологической лаборатории



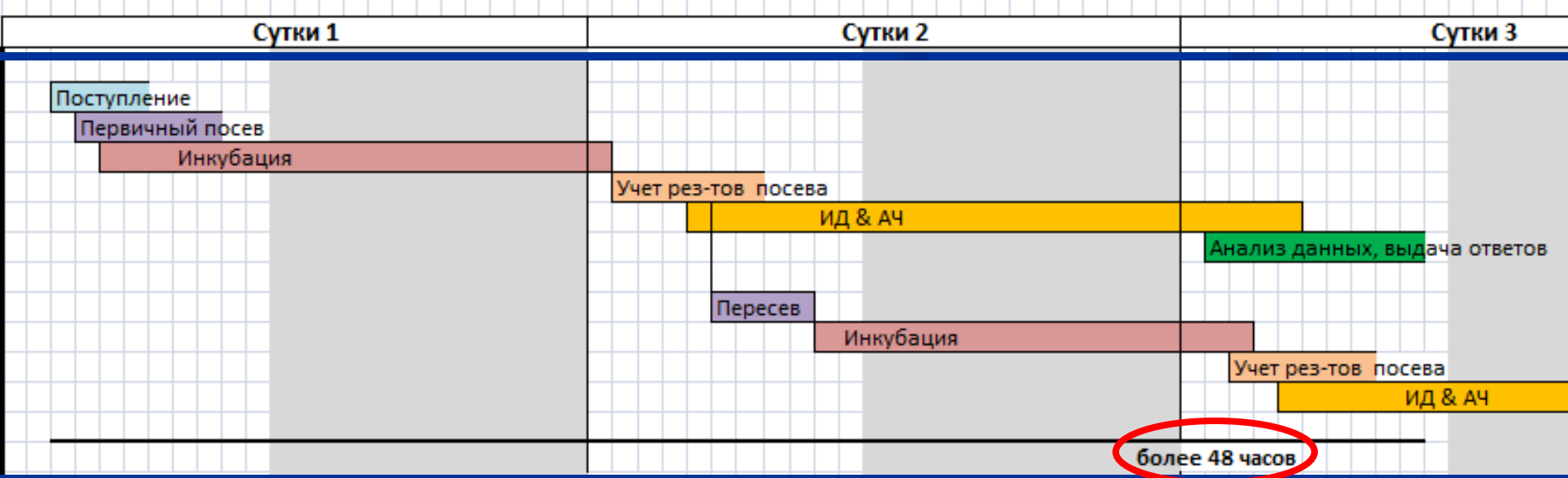
В России автоматизация микробиологических исследований проходит:
либо в рамках общей централизации лабораторной медицины.

Либо в рамках развития специализированных приоритетных направлений медицины (онкология, трансплантология, гематология, перинатальная и неонатальная патология).

Полностью автоматическая лаборатория микробиологии:



Стандартная ХОРОШО оснащенная лаборатория:



Современная микробиологическая диагностика:

MALDI – TOF масс-спектрометрия

Real-Time ПЦР

Автоматизированная система
бактериологического посева

Анализатор для гемокультивирования

Анализатор для идентификации
микроорганизмов и определения
чувствительности микроорганизмов к
препаратам

различные варианты секвенирования генома

ПЦР (ESI-TOF) + масс-спектрометрия

новые модификации ПЦР

микрочипы

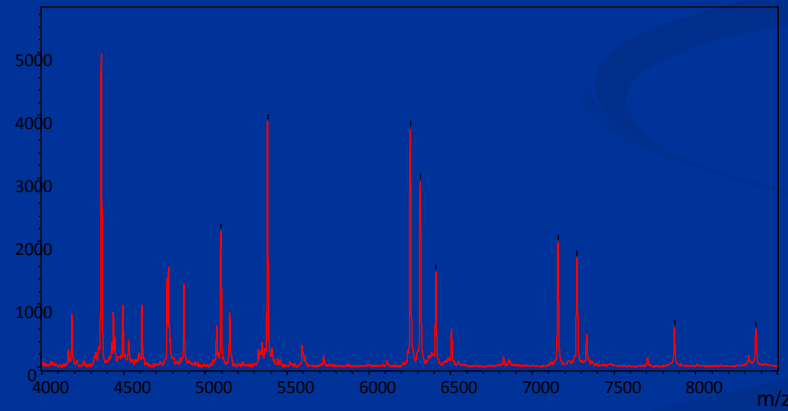
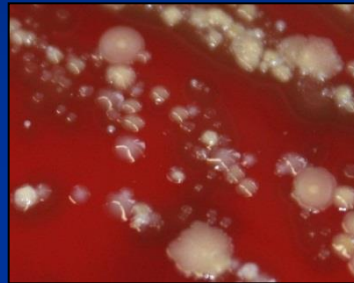
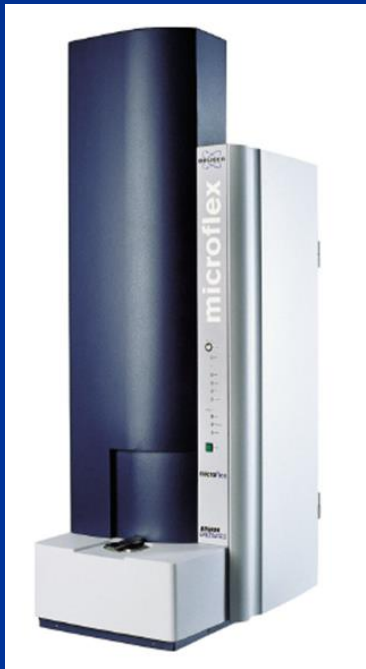
Россия передовой производитель ПЦР в мире.

- **Производители тест-систем:**
 - ЦНИИЭпид
 - ДНК-Технология
 - Вектор-БЕСТ
 - Литех
- **Количество ПЦР исследований в год больше 45 млн. 80-90% тест-систем отечественного производства.**
- **Производители оборудования ПЦР:**
ДНК-Технология
- **В год продается около 600 приборов класса «реал-тайм», это только 30% общей потребности.**
- **Основная доля ПЦР диагностики— это медицина частных инвесторов.**

Частота выявления (в %) редких и трудно культивируемых возбудителей воспалительных заболеваний органов дыхания у больных пневмонией и в группах сравнения

Виды возбудителей	Дети от 1года до 16 лет		Взрослые	
	Больные пневмонией (n=125)	Здоровые (n=127)	Больные пневмонией (n=384)	Здоровые (n=52)
M.pneumoniae	30,4 ± 4,1	1,6 ± 1,1	12,2 ± 1,7	0
S.pneumoniae	1,6 ± 1,1	0	12,0 ± 1,6	0
M.catarrhalis	0	0	2,3 ± 0,8	1,9 ± 1,9
L.pneumophila	0	0	0,5 ± 0,4	0
C.Psittaci	0,8 ± 0,8	0	0,3 ± 0,3	0
HSV I / II	8,0 ± 2,4	1,6 ± 1,1	14,6 ± 1,8	3,9 ± 2,7
Cytomegalovirus	52,8 ± 4,5	15,0 ± 3,2	5,5 ± 1,2	3,9 ± 2,7

Масс-спектрометрия MALDI-TOF



**Масс-спектрометрия – метод идентификации молекул
путем измерения отношения их массы к заряду в
ионизированном состоянии;
MALDI- ионизация вещества с помощью матрицы и
лазерного излучения.**

**TOF -MS - Время пролетная масс-спектрометрия.
Масса молекулы оценивается по времени пролета от
источника ионизации до детектора.**

MALDI: возможности метода

- MALDI может заменить все биохимические и морфологические методы идентификации, снижая потребление расходных материалов и количество контрольных тестов и повторных тестов
- Аналитическая чувствительность эквивалентна секвенированию сотен генов, поэтому точность приближается к 100%.
- Идентификация анаэробов выполняется так же просто, как и аэробных бактерий – не требуются особые операции (субкультуры, биохимические спот-тесты, хроматография)
- Идентификация плесневых грибов и микобактерий в тот же день, когда обнаружен рост (обычные методы требуют несколько дней или недель)
- Идентификация изолятов из культуры крови в течение часа после обнаружения

Факторы сдерживающие внедрение MALDI-TOF спектрометрии:

- Отсутствие стандартов пробоподготовки для идентификации бактерий непосредственно в клиническом материале;
- Недостатки программного обеспечения, затрудняющие достоверную интерпретацию результатов.

Секвенирование генома бактерий:

- мультилокусное
- полногеномное

MLST основан на установлении нуклеотидной последовательности небольших фрагментов ряда генов и последующем сравнении соответствующих последовательностей у различных штаммов микроорганизма.

- Обычно анализируют не более 7-8 локусов, необходимых для протекания реакций основного метаболизма, что обеспечивает высокую разрешающую способность метода не требуя больших затрат времени и средств.

1. молекулярная эпидемиология вирусов – возбудителей социально-значимых и природно-очаговых инфекций;

2. молекулярная эпидемиология антибиотикорезистентности (анализ генетического разнообразия штаммов продуцентов карбапенема, бета –лактамаз)

3. Выявление госпитального штамма –возбудителя внутрибольничной инфекции непосредственно в стационаре?

Интегративная точка зрения на стандартное определение госпитального штамма – для обсуждения

ГОСПИТАЛЬНЫЙ ШТАММ – НЕПОЗНАННАЯ РЕАЛЬНОСТЬ // Эпидемиология и

вакцинопрофилактика. – 2013. - №1. – С.30-36

Брико Н.И.¹, Брусина Е.Б.², Зуева Л.П.³, Ковалишена О.В.⁴, Ряпис Л.А.¹, Стасенко В.Л.⁵, Фельдблюм И.В.⁶, Шкарин В.В.⁴

¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, Москва

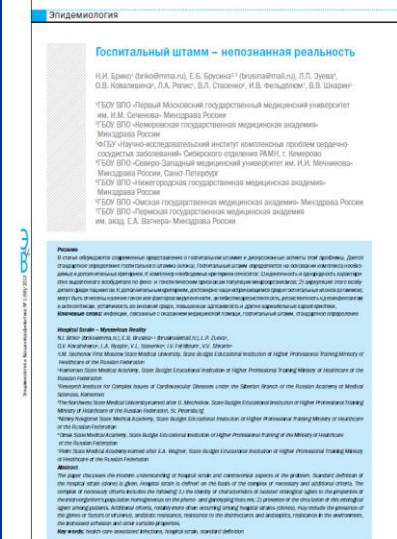
²ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия Минздрава РФ», г. Кемерово

³ГБОУ ВПО «Северо-Западный медицинский университет им. И.И. Мечникова Минздрава РФ», г. Санкт-Петербург.

⁴ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ», г. Нижний Новгород

⁵ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия Минздрава РФ», г. Омск

⁶ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. Е.А. Вагнера Минздрава РФ», г. Пермь



Стандартное определение госпитального штамма (клона)

- **Популяция госпитальных клонов (штаммов)** – однородная по фено- и генотипическим признакам совокупность особей определенного вида микроорганизмов, сформировавшаяся в госпитальной экосистеме и адаптированная к условиям больничной среды.
- **Госпитальный штамм** – чистая культура микроорганизма изолированная от пациентов, медицинского персонала или из внешней среды, обладающая фено- и генотипическими характеристиками, идентичными таковым выявленной популяции госпитальных микроорганизмов.

EWGLI

(European Working Group for Legionella Infections)

Total number of entries:	2445
Number of Sequence Types :	560
Number of <i>flaA</i> alleles:	26
Number of <i>pilE</i> alleles:	34
Number of <i>asd</i> alleles:	37
Number of <i>mip</i> alleles:	41
Number of <i>mompS</i> alleles:	55
Number of <i>proA</i> alleles:	36
Number of <i>neuA</i> alleles:	26

Sample source, total number of records 2445



29.10.08



Provided by The European Working Group for Legionella Infections (EWGLI) in conjunction with



Health Protection Agency and



The European Centre for Disease Prevention and Control



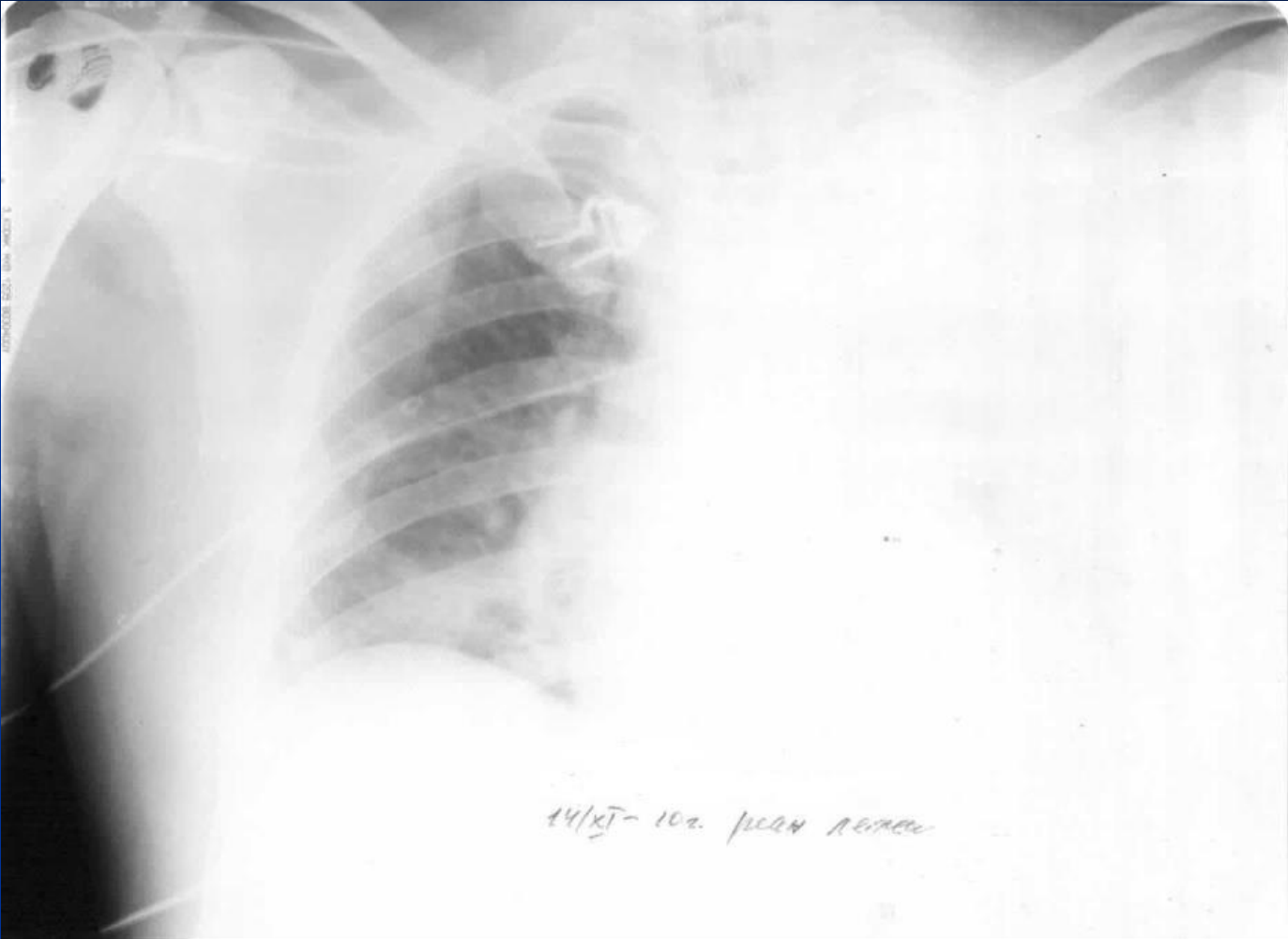
© Ermolaev Pavel 2008



© Ermolaev Pavel 2008

- Диагностику легионеллезной пневмонии осуществляли у 98 пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии Гематологического научного центра с января 2012 по декабрь 2014 года. Больные с пневмонией (100%), в состоянии агранулоцитоза (40%), лимфома, лейкоз, миелома (70%).
- Для диагностики использовали бактериологическое исследование бронхоальвеолярного лаважа и определение антигена легионелл в моче пациентов иммунохроматографическим методом.

- Диагноз легионеллезной инфекции был подтвержден у 12 больных (12,3% случаев) при исследовании БАЛ бактериологическим методом.
- Впервые прижизненно выделены культуры *Legionella pneumophila* серогруппы 1 (4), серогруппы 3 (8).



14/21 - 102. PLEUR PLEUR

STENOGRAPH 1952. 1000. MARCEL 1

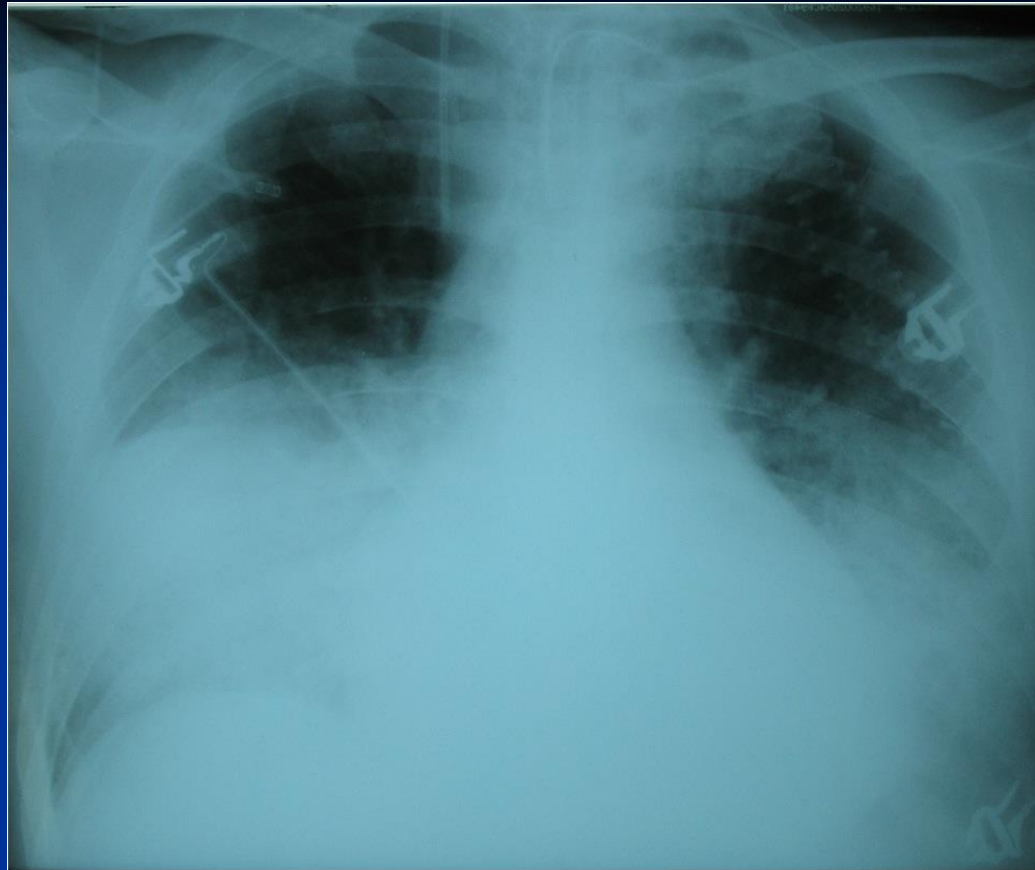


Рис. На рентгенограмме грудной клетки больного К. 13.02.2012 нижние отделы правого легочного поля затемнены, сверху затемнение отграничено малой междолевой щелью. Легочный рисунок усилен, деформирован. На этом фоне определяются очаговые тени, частично сливающиеся между собой. Корни легких не дифференцируются. Синусы не визуализируются. Тень сердца расширена влево. Картина двусторонней очагово-сливной плевропневмонии.

The characteristics of the patients

Patient №	Age	Sex	Hematological diagnosis	Isolated culture of <i>L.pneumophila</i> from bronchoalveolar fluid	Another pathogen, isolated from bronchoalveolar fluid	outcome
1	58	M	Drug agranulocytos	sg 1	A.baumanii	recover
2	34	M	Immune trombocytopenie	sg 3	-	death
3	52	F	Non-Hodgkins lymphoma	sg 3	P.juroveci	death
4	32	M	Acute leukaemie	sg 3	Aspergillus spp.	death
5	64	M	Multiple myeloma	sg 3	-	death
6	55	M	Multiple myeloma	sg 1	-	recover
7	83	M	Non-Hodgkins lymphoma	sg 1	-	recover
8	81	M	Non-Hodgkins lymphoma	sg 3	-	recover



Результаты микробиологического исследования образцов воды и смывов на наличие легионелл в ФГБУ Гематологический научный центр.

Проба воды для исследования	Количество легионелл (КОЕ\литр)
1. Отделение гематологии	6×10^2
2. Отделение реанимации	3×10^2
3. Отделение трансплантологии	$6,2 \times 10^3$
4. Отделение гемодиализа	$2,7 \times 10^3$
5. Новое отделение (высокодозная химиотерапия лимфом)	$5,5 \times 10^4$
6. Проба воды из бойлерной	$1,1 \times 10^5$

The results of DNA-sequence based and
 Mab typing of *L.pneumophila* strains.
 Isolated from bronchoalveolar fluid of patients.

clinical strains of <i>L.pneumophila</i>	serogroup	Mab-subgroup	st
Hem 1	1	France/Allentown	42
Hem 4	1	Philadelphia	36
Hem 5	1	Benidorm	1489
Hem 2	3	-	87
Hem 3	3	-	87
Hem 6	3	-	87
Hem 7	3	-	87
Hem 8	3	-	87

Из системы горячего водоснабжения выделены культуры *L.pneumophila* серогрупп 2 и 3. *L.pneumophila* серогруппы 1 отсутствует.

Все изоляты *L.pneumophila* серогруппы 3 из воды принадлежат к ST 87.

Дифференциация случаев легионеллезной пневмонии в Гематологическом центре:

- 4 случая внебольничной пневмонии, вызванной *L.pneumophila* sg 1
- нозокомиальная пневмония, вызванная *L.pneumophila* sg3 st 87 (8 случаев)

Нормативные документы системы Роспотребнадзора :

методические рекомендации (МР)

методические указания (МУК)

санитарные правила (СП)

Документы министерства здравоохранения :

- Приказ
- Стандарт оказания медицинской помощи



**МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**
(Минздрав России)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ МИНИСТРА

Рахмисовский пер., 3, Москва, 1 Сп 4, 127991
тел.: (495) 628-44-93, факс: (495) 628-50-58

11 МАРТ 2013 № 16 - 3/10/12-5335

На № _____ от _____

Главным внештатным
специалистам Минздрава России

Минздрав России



2005339 24.07.13

Министерство здравоохранения Российской Федерации в целях обеспечения единых подходов в разработке и утверждению клинических рекомендаций (протоколов лечения) по вопросам оказания медицинской помощи (далее - клинические рекомендации) сообщает.

Клинические рекомендации должны соответствовать типовому макету клинических рекомендаций, утвержденному на совещании главных внештатных специалистов Минздрава России 15 марта 2013 г.

Клинические рекомендации должны содержать коды международной статистической классификации болезней (МКБ).

Обращаем внимание, что в соответствии со ст. 76 Федерального закона от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» клинические рекомендации разрабатываются и утверждаются с участием медицинских профессиональных некоммерческих организаций.

Соответствующие данной законодательной норме клинические рекомендации должны быть рассмотрены на заседаниях соответствующей профильной комиссии и утверждены главным внештатным специалистом Минздрава России.

Утвержденные клинические рекомендации направляются в Департамент специализированной медицинской помощи и медицинской реабилитации Минздрава России в соответствии с сетевым графиком.


И.Н.Каграмян

Порядок подготовки и утверждения клинических рекомендаций МЗ России.

Подготовка документа общественной медицинской научной организации.



Утверждение документа профильной комиссии Минздрава России по клинической лабораторной диагностике



В Минздрав России для включения в электронную библиотеку и стандарты оказания медицинской помощи по направлениям .

6 клинических рекомендаций по микробиологии из 20 утвержденных профильной комиссией по клинической лабораторной диагностике.

- Внутрилабораторный контроль качества питательных сред.
- Бактериологический анализ мочи.
- Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний.
- *Молекулярно-биологическое исследование для выявления ДНК или РНК возбудителей инфекций, выявляемых половым путем.*
- *Молекулярно-биологическое исследование «Определение концентрации РНК ВИЧ в плазме крови.*

Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам.»

XVI международный конгресс по антимикробной химиотерапии МАКМАХ/ESCMID, май 2014, Москва
Всероссийская научно-практическая конференция по медицинской микробиологии и клинической микологии
,XVII Кашкинские чтения ,июнь 2014, Санкт-Петербург.

Федеральная электронная медицинская библиотека.
15112014/1 «Определение чувствительности
микроорганизмов к антимикробным препаратам»
с 15 ноября 2014 года

Ответственность : Межрегиональная ассоциация по клинической
микробиологии и антимикробной химиотерапии.

- Основное заглавие серии : Национальные клинические рекомендации.
- Рубрика MeSH –микробная чувствительность, тесты-методы.
- Рубрика MeSH – антибактериальные средства - фармакология



ФЕДЕРАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Фундаментальный регулятор лабораторного сообщества



**7 октября 2014 года зарегистрировано
общественное объединение – Федерация
лабораторной медицины.**

**7 ноября 2014 года создан комитет
микробиологии в составе Федерации
лабораторной медицины.**

(в состав комитета вошли 3 представителя
НАСКИ по рекомендации главного специалиста
Минздрава по эпидемиологии Н.И.Брико)

Кутырев Владимир Викторович – главный
бактериолог Минздрава России в 2001-2003гг.

Козлов Роман Сергеевич –
главный внештатный специалист
Минздрава России по
клинической микробиологии и
антимикробной резистентности
с марта 2015г.

В июне 2015г. Утвержден состав профильной комиссии Минздрава РФ по клинической микробиологии и антибиотикорезистентности в состав которой вошли 5 членов комитета по микробиологии ФЛМ.

В декабре 2015г. 3 члена комитета назначены главными специалистами Центрального, Южного и Северокавказского федеральных округов.

Российский конгресс лабораторной
медицины.

30.09-2.10 2015 Москва ,КВЦ Сокольники

12 секций посвященных различным
аспектам лабораторной
диагностики инфекционных
болезней.

- Антибиотикорезистентность и возможности ее выявления;
- Микробиоценоз человека;
- Проблемы диагностики и профилактики внутрибольничных инфекций;
- Роль микробов оппортунистов в этиологии инфекционных болезней
 - Современный взгляд на диагностику
 - глубоких микозов;
 - Болезни вирусной этиологии ;
 - Лабораторная диагностика инфекций, передаваемых половым путем;
 - Проблема лабораторной диагностики в паразитологии;
- Семинары по оптимизации и автоматизации диагностики в микробиологии

Основные задачи комитета по микробиологии на 2016 год:

-продолжить активное сотрудничество с НАСКИ и МАКМАХ, возглавляемых главными специалистами Минздрава по эпидемиологии (академик РАН Н.И.Брико) и клинической микробиологии и антибиотикорезистентности (проф.Р.С.Козлов) для решения общих задач по совершенствованию микробиологической диагностики и обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

- совершенствование нормативной базы и номенклатуры микробиологических исследований в рамках общих задач по стандартизации и автоматизации лабораторных исследований .

- подготовка новых клинических рекомендаций по диагностике инфекционных заболеваний на основе микробиологических и молекулярно-генетических методов, соответствующих высоким международным стандартам.

-организация и автоматизация бактериологических исследований в системе КДЛ;

-активное внедрение молекулярно-генетических методов в лабораторную диагностику инфекционных заболеваний (молекулярная диагностика инфекций органов репродукции; верхних и нижних дыхательных путей, кишечных инфекций);

-лабораторная диагностика социально-значимых вирусных и бактериальных заболеваний

План подготовки клинических рекомендаций на 2016 год:

- 1. Анализ мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ. (отв. М.Р.Бобкова)
- 2. Лабораторная диагностика гриппа и других ОРВИ методом полимеразной цепной реакции. (отв. С.Б. Яцышина)
- 3. Бактериологический анализ отделяемого дыхательных путей. (отв. Ю.А.Захарова)
- 4. Микробиологическая диагностика инфекций беременных и новорожденных, вызванных β -гемолитическим стрептококком группы В. (отв. Припутневич Т.В., Мелкумян А.Г.)

РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

- 12-14 октября 2016г. ВДНХ,
павильон 75
- 16 секций по микробиологии
совместно с МАКМАХ и НАСКИ

Темы секций: зал Мечников

- Новые технологии ранней диагностики и лабораторного контроля инфекционных заболеваний различной этиологии.
- Прогресс в области клинической микробиологии и изучения антибиотикорезистентности микроорганизмов .
- Новые возможности лабораторной диагностики вирусных, паразитарных и грибковых заболеваний .
- Актуальные вопросы лабораторной диагностики и профилактики внутрибольничных инфекций.
- Лабораторная диагностика социально-значимых и массовых инфекций (СПИД, туберкулез, респираторные и кишечные инфекции; инфекции передающиеся половым путем и др.).

**БЛАГОДАРЮ
ЗА
ВНИМАНИЕ**